

DOCKET NO.: 255977US2PCT

#2

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Ulrich BOCKELMANN et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/FR02/04283

INTERNATIONAL FILING DATE: December 11, 2002

FOR: DETECTION OF MOLECULAR PROBES FIXED TO AN ACTIVE ZONE OF A SENSOR

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Commissioner for Patents
Alexandria, Virginia 22313

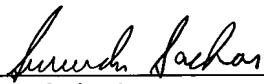
Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO</u>	<u>DAY/MONTH/YEAR</u>
France	02 00676	21 January 2002

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/FR02/04283. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Marvin J. Spivak
Attorney of Record
Registration No. 24,913
Surinder Sachar
Registration No. 34,423

Customer Number

22850

(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 08/03)

BEST AVAILABLE COPY



10/501772
Rec'd PCT/PIO 20 JUL 2004
PO FRO 2704283

REC'D 18 FEB 2003
WIPO PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le

13 DEC. 2002

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

DOCUMENT DE PRIORITÉ

Martine PLANCHE

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1 a) OU b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04
Télécopie : 33 (1) 42 93 59 30
www.inpi.fr

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

OB 540 W / 2E0599

<p>REPRISE DES PIÈGES DATE 21 JAN 2002</p> <p>75 INPI PARIS</p> <p>LIEU</p> <p>N° D'ENREGISTREMENT 0200676</p> <p>NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI</p> <p>DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 21 JAN. 2002</p> <p>Vos références pour ce dossier (facultatif) PJmnF644/71 FR</p>		<p>NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE</p> <p>CABINET ORES</p> <p>6 AVENUE DE MESSINE 75008 PARIS</p>
<p>Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie</p>		
<p>2 NATURE DE LA DEMANDE</p> <p>Demande de brevet <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Demande de certificat d'utilité <input type="checkbox"/></p> <p>Demande divisionnaire <input type="checkbox"/></p> <p><i>Demande de brevet initiale</i> N° Date / / <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> N° Date / /</p> <p>Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> <input type="checkbox"/> N° Date / /</p>		
<p>3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</p> <p>PROCEDE DE DETECTION D'AU MOINS UN PARAMETRE CARACTERISTIQUE DE MOLECULES SONDES FIXEES SUR AU MOINS UNE ZONE ACTIVE D'UN CAPTEUR.</p>		
<p>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</p>		<p>Pays ou organisation Date / / N°</p> <p>Pays ou organisation Date / / N°</p> <p>Pays ou organisation Date / / N°</p> <p><input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»</p>
<p>5 DEMANDEUR</p> <p>Nom ou dénomination sociale</p>		<p><input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»</p> <p>CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE</p>
<p>Prénoms</p>		
<p>Forme juridique Etablissement Public</p>		
<p>N° SIREN</p>		
<p>Code APE-NAF</p>		
<p>Adresse</p>	Rue	3, rue Michel-Ange
	Code postal et ville	75794 PARIS CEDEX 16
<p>Pays FRANCE</p>		
<p>Nationalité Française</p>		
<p>N° de téléphone (facultatif)</p>		
<p>N° de télécopie (facultatif)</p>		
<p>Adresse électronique (facultatif)</p>		

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

21 JUIN 2001
REPRISE À L'INPI
REMISE DES PIÈCES
DATE 75 INPI PARIS
LIEU 0200676
N° D'ENREGISTREMENT
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DB 540 W / 260509

6 MANDATAIRE			
Nom		JACQUARD	
Prénom		Philippe	
Cabinet ou Société		CABINET ORES	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	6 AVENUE DE MESSINE	
	Code postal et ville	75008	PARIS
N° de téléphone (facultatif)		01.45.62.75.00	
N° de télécopie (facultatif)		01.45.62.04.86	
Adresse électronique (facultatif)		ores@cabinet-ores.com	
7 INVENTEUR (S)			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui	<input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée
8 RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Requise antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence).	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		JACQUARD Philippe  Mandataire n° 92-4024	VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI  M. BLANCANEAUX

**PROCEDE DE DETECTION D'AU MOINS UN PARAMETRE
CARACTERISTIQUE DE MOLECULES SONDES FIXEES SUR AU MOINS
UNE ZONE ACTIVE D'UN CAPTEUR**

5 La présente invention a pour objet un procédé de détection d'au moins un paramètre représentatif de molécules sondes fixées sur des zones d'un capteur.

On connaît déjà un procédé de détection de l'hybridation de séquences d'ADN à l'aide d'un transistor à effet de champ, tel qu'il a été 10 décrit dans l'article de E. SOUTEYRAND et collaborateurs intitulé « Direct Detection of the hybridization of synthetic Homo-Oligomer DNA Sequences by Field Effect » paru en 1997 dans le J. Phys. Chem. B1997, 101, pages 2980 à 2985. Un transistor de type ISFET (« Ion-Sensitive – Field Effect Transistor ») utilisable dans ce type d'application a été décrit dans l'article de 15 Piet BERGVELD « Development, Operation and Application of the ISFET as a Tool for Electrophysiology paru dans IEEE Transactions on Biomedical Engineering volume BME-19 – n° 5 Sept 1972 pages 342 à 351. Des indications sur la fabrication de telles structures de transistors peuvent être trouvées dans l'article de V. KIESSLING et collaborateurs, intitulé 20 « Extracellular Resistance in Cell Adhesion Measured with a Transistor Probe » paru dans Langmuir 2000 16, pages 3517 – 3521. Enfin un mode de préparation des surfaces a été décrite dans l'article de A. KUMAR et collaborateurs, intitulé « Silanized nucleid acids : a general platform for DNA 25 immobilization » paru dans Nucleid Acid Research 2000, volume 28, n° 14, pages i à vi.

Deux procédés de fixation des molécules sondes sur la surface sont notamment utilisables dans le cadre de la présente invention. Le premier consiste en une synthèse directe sur solide, telle que décrite par exemple dans l'article de S.P.A. Fodor et Collaborateurs intitulé « Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis » paru dans Science 30 251, pages 767 à 773 (1991). Le deuxième est la fixation des molécules à partir d'une dilution.

Dans le cas des capteurs comportant une pluralité de zones actives, par exemple les puces à ADN, ou les puces à protéines, il n'existe 35 pas actuellement de technique disponible permettant de contrôler facilement

et de manière relativement rapide sur quelles zones des molécules sondes ont été fixées effectivement.

La présente invention a ainsi pour but un procédé de détection d'au moins un paramètre représentatif de molécules sondes fixées sur au moins une zone d'un capteur, notamment en vue de contrôler le dépôt et la fixation locales des molécules sondes, pour permettre en particulier de remédier au moins partiellement aux problèmes que posent les variations expérimentales importantes qui sont fréquemment rencontrées en pratique.

La présente invention concerne ainsi un procédé de détection d'au moins un paramètre représentatif de molécules sondes fixées sur au moins une zone active d'un capteur, caractérisé en ce que ledit capteur est constitué par un réseau de transistors à effet de champ dont chacun présente une région de source, une région de drain, et une région de porte qui constitue une dite zone active sur laquelle ledit paramètre représentatif des molécules sondes doit être détecté et en ce qu'il comporte les étapes suivantes :

a) mettre en contact certaines desdites zones avec des molécules sondes pour réaliser leur fixation,

b) baigner dans une solution d'électrolyte au moins ces zones qui ont été mises en contact avec des molécules sondes,

c) mesurer au moins un point de la caractéristique courant de drain/tension source-porte / tension source-drain d'au moins deux des transistors d'un premier groupe correspondant à des zones mises en contact avec des molécules sondes, par exemple en appliquant à ces transistors du premier groupe dont le drain et la source ont été polarisés, une tension donnée par exemple constante entre la porte et la source ou bien un courant de drain donné par exemple constant, pour en déduire au moins un dit paramètre représentatif par comparaison entre au moins deux des mesures obtenues pour deux différentes zones. Ladite comparaison est préférentiellement réalisée à l'aide d'une mesure différentielle. Le paramètre représentatif peut être une détection de la fixation de molécules sondes.

Entre les étapes a et b, il peut être prévu un rinçage.

Selon un mode particulier de mise en œuvre, le procédé est caractérisé en ce qu'il comporte après a) et avant b) les étapes suivantes :

35 a1) rinçage

a2) ajout d'une solution contenant des molécules cibles susceptibles d'interagir spécifiquement avec les molécules sondes, par exemple de s'hybrider avec celles-ci dans le cas où les molécules sondes sont de l'ADN, éventuellement suivi d'un rinçage.

5 Selon un autre mode particulier de mise en œuvre, le procédé est caractérisé en ce qu'il comporte après c, les étapes suivantes :

d) ajout d'une solution d'électrolyte contenant des molécules cibles susceptible d'interagir spécifiquement avec les molécules sondes, par exemple de s'hybrider dans le cas où les molécules sondes sont de l'ADN.

10 e) mesurer au moins un point de la caractéristique courant de drain/tension source-porte / tension source-drain d'au moins deux des transistors d'un deuxième groupe correspondant à des zones mises en contact avec des molécules sondes et avec des molécules cibles, par exemple en appliquant une tension par exemple constante entre la porte et la 15 source de ces transistors du deuxième groupe dont le drain et la source ont été polarisés ou un courant donné par exemple constant à la source de ces transistors du deuxième groupe, pour obtenir par comparaison au moins un dit paramètre représentatif.

20 Le procédé peut mettre en œuvre une pluralité de dites mesures d'au moins un point de la caractéristique, qui sont espacées au cours du temps. Ceci permet une mesure doublement comparative, dans l'espace et dans le temps.

25 Selon une première variante, la comparaison, notamment par mesure différentielle, est réalisée entre au moins deux transistors correspondant à des zones qui sont baignées par une solution d'électrolyte, après avoir été mises en contact avec des molécules sondes.

30 Selon une deuxième variante préférée, cette comparaison, notamment par mesure différentielle, est réalisée entre au moins un transistor correspondant à une zone qui est baignée par une dite solution d'électrolyte après avoir été mise en contact avec des molécules sondes et au moins un transistor correspondant à une zone qui est baignée par ladite solution d'électrolyte sans avoir été préalablement mise en contact avec des molécules sondes.

35 Les molécules sondes sont par exemple des molécules d'ADN, d'ARN ou de protéines.

Le procédé selon l'invention est compatible avec une détection classique d'interaction moléculaire par fluorescence.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture de la description ci-après, en liaison avec les dessins annexés dans lesquels :

- la figure 1 représente deux transistors à effet de champ d'une puce de détection comprenant une pluralité de tels transistors organisés suivant un réseau bidimensionnel de transistors ;

- la figure 2 représente en vue de dessus un détail d'une puce de détection et l'agencement des zones actives correspondant chacune à un transistor à effet de champ ;

- la figure 3 illustre les connexions électriques de drain des transmissions du réseau bidimensionnel, la figure 4 représentant la résistance des différentes connexions électriques de drain, la courbe A représentant les 15 valeurs calculées et la courbe B les valeurs mesurées, l'écart entre les courbes étant dû pour l'essentiel à la résistance de canal qui est constante.

- la figure 5 représente un dispositif de dépose de la solution sur des zones actives sélectionnées ;

- la figure 6 illustre la détection de présence d'ADN silanisé et 20 de poly-L-lysine avec U_{SG} et U_{SD} constants, par variation du courant de drain I_{SD} ; et

- la figure 7 illustre la détection de présence d'ADN silanisé et de poly-L-lysine avec I_{SD} et U_{SD} constants, par détection de la variation de la tension U_{SG} .

Les figures 1 à 3 illustrent un capteur présentant un réseau de transistors à effet de champ sur un substrat en silicium. Un transistor T_1 ou T_2 représenté en coupe à la figure 1 est pourvu d'une région de source S et d'une région de drain D qui présentent chacune un contact électrique et qui sont surmontées d'une couche isolante respectivement 1 et 2, par exemple 30 un oxyde thermique de SiO_2 . La région active 3 entre la source S et le drain D forme la région de porte G du transistor et présente une couche isolante 4 d'épaisseur réduite, par exemple une couche de SiO_2 thermique. Il est également possible de ne pas disposer d'oxyde sur cette région active. La surface active est alors délimitée par une portion 4' du substrat qui est mise à nu.

Des molécules sondes, par exemple des molécules d'ADN simple brin, sont fixées par un procédé connu sur au moins certaines des surfaces actives 4 ou 4'. Pour l'ADN, on utilise de préférence des transistors à effet de champ à canal n à appauvrissement (pour lesquels les porteurs de charge sont les électrons, plus mobiles d'où une augmentation de la sensibilité) avec une polarisation de porte négative (c'est-à-dire que l'électrolyte est polarisé négativement par rapport au semi-conducteur), l'ADN se chargeant négativement (pour un électrolyte de pH neutre).

L'application d'une tension source-drain U_{SD} entre la source S et le drain D (U_{SD1} pour T_1 , et U_{SD2} pour T_2) et d'une tension porte-source U_{GS} entre l'électrolyte 6 et la source S (par exemple par une électrode E unique Ag/AgCl) induit un gaz bidimensionnel de porteurs de charges à l'interface Si/SiO₂, ou à l'interface Si/électrolyte de chaque transistor. Il en résulte un courant de drain I_D qui, pour chaque transistor, dépend de façon sensible de la charge à l'interface SiO₂/électrolyte ou Si/électrolyte. On appelle surface active cette interface qui fait face au canal entre la source S et le drain D.

Le courant I_D dépend de la fixation des molécules sondes, par exemple des molécules d'ADN sur la surface active 4 ou 4'.

Comme le montrent les figures 2 et 3, n structures de type transistor à effet de champ sont intégrées dans un substrat de silicium recouvert d'un isolant (SiO₂ ou autre) et pourvu de connexions appropriées (métallisation ou de préférence régions conductrices dopées) par les prises de contact électrique de source 10 et de drain (D_1, \dots, D_n). À la différence d'une structure de transistor MOS standard, il n'y a pas d'électrode métallique de porte. Ceci correspond à la structure de type « ISFET » (« Ion Sensitive Field Effect Transistor »). On utilise de préférence un substrat de type SOI (silicium sur isolant) qui procure une sensibilité plus élevée.

Les différentes structures sont à faible distance latérale l'une de l'autre et leurs surfaces actives sont en contact avec la même solution de mesure. Une dimension latérale typique dans la micro-électronique actuelle est inférieure au μm . Dans la technologie des puces à ADN telle que mise en œuvre dans la présente invention, la dimension latérale est de 5-10 μm pour une synthèse directe sur le solide et de 50-100 μm dans le cas d'une fixation des molécules à partir d'une dilution.

Dans la présente configuration de mesure parallèle, plusieurs plots avec différents types de molécules sondes immobilisées sont en contact

avec la même solution de mesure et au moins une structure de transistor se situe en dessous de chaque plot. La mise en œuvre de plusieurs transistors par plot est possible au vu des dimensions mentionnées ci-dessus et permet une redondance dans la détection.

5 Une électrode E (Ag/AgCl, par exemple), est utilisée pour fixer le potentiel de la solution de mesure 6 (électrolyte) par rapport à la structure en silicium qu'elle recouvre et pour fixer le point de travail des capteurs (transistors). Le potentiel de l'électrolyte 6 peut dans certains cas être égal à zéro. La solution de mesure 6 qui baigne les capteurs contient des ions à une concentration qui donne une conductivité suffisante et qui ne donne pas lieu à un écrantage trop important au niveau des surfaces actives. Son pH est de préférence neutre.

10 15 Le procédé de détection des reconnaissances moléculaires est basé sur une approche par comparaison, notamment différentielle. La mesure est réalisée en utilisant plusieurs structures de transistor en parallèle. La mesure peut être différentielle par rapport aux différents types de molécules greffées et inclure éventuellement plusieurs transistors par type de molécule. Il est également possible de comparer des signaux avant/après la réaction qui révèle la reconnaissance moléculaire (et/ou l'évolution pendant 20 cette réaction).

25 Le procédé selon l'invention permet de contourner les difficultés associées à la sensibilité d'un capteur individuel au pH et à la force ionique et celles associées à une variabilité d'un transistor individuel à l'autre (ceci inclut la structure de transistor et la qualité de la fixation des sondes).

Un procédé selon un mode de réalisation préféré met en œuvre les étapes suivantes :

a) traitements homogènes de toute la surface isolante pour préparer la fixation des molécules sondes ;

30 b) greffage local de différents types de molécules sondes sur au moins certaines des surfaces actives individuelles ;

c) rinçages homogènes ;

35 d) mesure électronique : ajouter l'électrolyte de mesure, plonger l'électrode et mesurer les transistors (par exemple un ou plusieurs points de la caractéristique I_D en fonction de U_{SD} et de U_{SG}), et comparer les résultats obtenus selon les transistors ;

e) rinçages homogènes ;

- f) et éventuellement ajout de la solution de molécules cibles en présence d'électrolyte et réaction de reconnaissance ;
- g) rinçages homogènes ;
- h) mesure électronique, comme (d).

5 En cas de mise en œuvre des étapes f à h, il est possible d'omettre c et d, c'est-à-dire de ne faire qu'une mesure électronique.

10 Certains transistors qui n'ont pas été mis en présence de molécules sondes (ou bien un seul transistor) peuvent servir de témoins. On mesure leurs caractéristiques après ajout de l'électrolyte de mesure qui par exemple, baigne l'ensemble des transistors.

Le greffage des molécules sondes est réalisé par dépôt de micro-gouttelettes de diamètre environ 100μ sur les surfaces actives des transistors à l'aide de micro-plumes métalliques qui sont disponibles commercialement.

15 Comme le montre la figure 3, le réseau de n transistors (par exemple $n = 96$ transistors) présente n connexions de drain $D_1, D_2 \dots D_n$ et 2 connexions (non représentées) équivalentes à la source commune. Les résistances série R_c associées à ces connexions ont des valeurs qui dépendent de l'index 1 ...n du drain.

20 Les valeurs de ces résistances R_c , réalisées par exemple par dopage du silicium, ne sont pas négligeables.

25 A cet effet les résistances R_c de connexion de drain sont calculées à partir des longueurs et des sections géométriques des lignes dopées dont on connaît la résistivité. Le calcul est comparé à une mesure de la résistance en fonction de l'index du drain en appliquant une tension continue (par exemple $U_{SD} = 0,1V$ et $U_{SG} = 2V$). Ceci permet d'obtenir une courbe de compensation donnée à titre d'exemple à la figure 4.

30 Une installation telle que celle représentée à la figure 5 peut être utilisée pour la mise en œuvre du procédé : sur une table 10, est disposée une platine 12 incorporant un dispositif de commande à micro-contrôleur pour une table 11 assurant un déplacement selon trois directions perpendiculaires X, Y, Z. Une puce 15 incorporant le réseau de n transistors est disposée sur un support 14. Une autre platine 20 comportant une table 21 assurant un déplacement selon les trois directions X, Y, et Z est mise en œuvre pour déplacer un bras 22 portant une micro-plume ou une pipette 23 pour assurer le dépôt des micro-gouttelettes sur au moins certains des n

transistors. Un objectif 17 et/ou une caméra couplée à un écran 19 permettent d'observer le dépôt des micro-gouttelettes et de contrôler les opérations.

On effectue des mesures de courant de drain I_D avec par exemple $U_{SG} = 1V$ et $U_{SD} = 0,9V$ et un électrolyte de pH neutre déposé qui est 5 constitué de KCl à une teneur de 0,1 millimole par litre. Les transistors (canal p à accumulation) ayant leurs sources interconnectées, la tension de source ou la tension de porte peut servir de référence de tension (par exemple la tension de masse).

Une mise en œuvre du procédé sera maintenant décrite en 10 liaison avec la figure 6.

Avant ces mesures, on effectue un traitement global de la surface de la structure Si/SiO₂ par incubation 1-2 minutes dans de l'acide sulfochromique et rinçage sous un courant d'eau déionisée puis incubation 3 à 5 minutes dans une solution de NaOH (60 µl NaOH 16N, 420µl d'éthanol et 15 220 µl d'eau), et enfin rinçage sous un courant d'eau déionisée.

La différence entre deux mesures effectuées avant dépôt local mais avant et après un rinçage à l'eau est présentée en petits carrés à la figure 6. Les croix représentent la différence entre une mesure effectuée après dépôt local de deux solutions différentes et une mesure faite avant le dépôt (la mesure faite avant le rinçage à l'eau).

20 Avec une pointe commerciale 23 (Telechem SMP3B) montée sur le dispositif 22 présenté à la figure 5, on dépose une solution 1 sur les transistors 5-7 (avec un contact entre pointe et surface), les transistors 19-21 et les transistors 33-37 et une solution 2 sur les transistors 66-69, les 25 transistors 76-79, et les transistors 87-89.

Solution 1 : 0,5 µl oligonucléotide 20 mer modifiée thiol en 5' à 1 nmol/µl, 9 µl sodium acétate 30 mM à pH 4,3, 0,5 µl mercaptosilane 5mM dans sodium acétate, que l'on laisse réagir une heure à température ambiante, avant le dépôt.

30 Solution 2 : Poly-L-lysine (0,01% poids/volume « w/v » final) dans un tampon PBS 0,1X à pH 7.

Après les dépôts locaux, l'échantillon est séché 15 minutes en atmosphère humide et ensuite 5 minutes à 50°C.

35 La poly-L-lysine est positive dans l'électrolyte de mesure (pH neutre) à cause des groupements amines ionisés. La diminution du courant

observé sur les dépôts de poly-L-lysine est compatible avec l'adsorption d'une charge positive sur la surface.

Pour la solution 1, la modification silane sur l'ADN réagit avec les groupements OH de SiO_2 et l'ADN est chargé négativement en solution.

5 Les solutions 1 et 2 donnent donc des signaux de signes opposés.

Une autre mise en œuvre de procédé sera maintenant décrite en liaison avec la figure 7.

On mesure la différence de potentiel de surface ΔV_{SG} 10 correspondant à la mesure avant/après dépôt. Pour déterminer ΔV_{SG} , on mesure la caractéristique bidimensionnelle par exemple $I_D(U_{SD}, U_{SD})$ et on détermine les caractéristiques intrinsèques des 96 transistors en corrigeant numériquement en fonction des résistances R_c des lignes de drain en série. La modification de l'état de l'interface SiO_2 induit un changement de la 15 caractéristique intrinsèque qui correspond à un décalage ΔU_{SG} à U_{DS} et à courant de drain I_D constants. Ce décalage permet d'obtenir directement une mesure indépendante du point de travail du transistor, contrairement au changement de courant ΔI_D présenté dans la figure 6. La valeur ΔU_{SG} permet 20 en première approximation de quantifier le changement de l'interface $\text{SiO}_2/\text{liquide}$ induit par le dépôt local. Selon une variante, on fait varier U_{GS} de façon à garder I_D constant.

REVENDICATIONS

1. Procédé de détection d'au moins un paramètre représentatif de molécules sondes fixées sur des zones actives d'un capteur, 5 caractérisé en ce que ledit capteur est constitué par un réseau de transistors à effet de champ (T_1 , T_2 ...) dont chacun présente une région de source (S), une région de drain (D), ainsi qu'une région de porte qui constitue une dite zone active (3) sur laquelle ledit paramètre représentatif doit être détecté et en ce qu'il comporte les étapes suivantes :
 - 10 a) mettre en contact certaines desdites zones (3) avec des molécules sondes pour réaliser leur fixation,
 - b) baigner dans une solution d'électrolyte (6) au moins ces zones qui ont été mises en contact avec des molécules sondes,
 - 15 c) mesurer au moins un point de la caractéristique courant de drain/tension source-porte/tension source-drain d'au moins deux des transistors d'un premier groupe correspondant à des zones (3) mises en contact avec des molécules sondes pour en déduire au moins un dit paramètre représentatif par comparaison entre au moins deux dites mesures obtenues pour deux différentes zones.
- 20 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que ladite mesure d'au moins un point de la caractéristique met en œuvre l'application d'une tension donnée (U_{DS}) entre le drain et la source d'au moins lesdits deux transistors du premier groupe ainsi que l'application dans un premier cas d'une tension donnée (U_{GS}) entre la porte et la source de ces transistors du premier groupe ou, dans un deuxième cas d'un courant de drain (I_D) donné à ces transistors du premier groupe,
- 30 3. Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il présente entre a et b une étape de rinçage.
4. Procédé selon une des revendications précédentes, 35 caractérisé en ce qu'il comporte après a) et avant b) les étapes suivantes :
 - a1) rinçage
 - a2) ajout d'une solution contenant des molécules cibles susceptibles d'interagir spécifiquement avec les molécules sondes.
5. Procédé selon une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il comporte après c), les étapes suivantes :

d) ajout d'une solution d'électrolyte (6) contenant des molécules cibles susceptibles d'interagir spécifiquement avec les molécules sondes.

5 e) mesurer au moins un point de la caractéristique courant de drain/tension, source-porte / tension source-drain d'au moins deux des transistors d'un deuxième groupe correspondant à des zones (3) mises en contact avec des molécules sondes et avec des molécules cibles pour obtenir par comparaison au moins un dit paramètre représentatif.

10 6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que, au point e, la mesure d'au moins un point de la caractéristique met en œuvre l'application d'une tension donnée (U_{DS}) entre le drain et la source des transistors d'au moins lesdits deux transistors du deuxième groupe, et l'application dans un premier cas d'une tension donnée (U_{GS}) entre la porte et la source de ces transistors du deuxième groupe ou dans un deuxième cas 15 d'un courant de drain (I_D) donné à ces transistors du deuxième groupe,

7. Procédé selon une des revendications 5 ou 6, caractérisé en ce qu'il met en œuvre une pluralité de dites mesures d'au moins un point de la caractéristique, qui sont espacées au cours du temps.

20 8. Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que ladite comparaison est réalisée par mesure différentielle.

25 9. Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la comparaison est réalisée entre des mesures effectuées sur au moins deux transistors correspondant à des zones (3) qui sont baignées par une solution d'électrolyte (6) après avoir été mises en contact avec des molécules sondes.

30 10. Procédé selon une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la comparaison est réalisée entre des mesures effectuées sur au moins un transistor correspondant à une zone (3) qui est baignée par une solution d'électrolyte (6) après avoir été mise en contact avec des molécules sondes en vue de leur fixation et sur au moins un transistor correspondant à une zone qui est baignée par ladite solution d'électrolyte (6) sans avoir été mise en contact avec des molécules sondes.

35 11. Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que ledit paramètre représentatif est une détection de la fixation de molécules sondes sur une dite zone (3).

12. Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que les molécules sondes sont des molécules d'ADN, d'ARN ou de protéines.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que les molécules sondes sont des molécules d'ADN et en ce que les transistors à effet de champ sont de type à canal n à appauvrissement, avec une polarisation de porte négative.

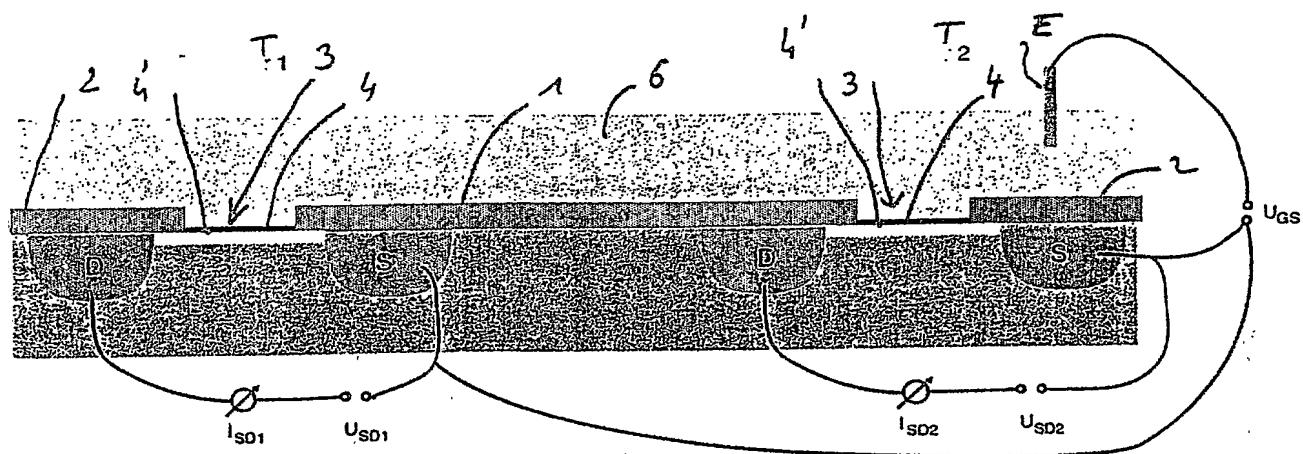


FIG.1

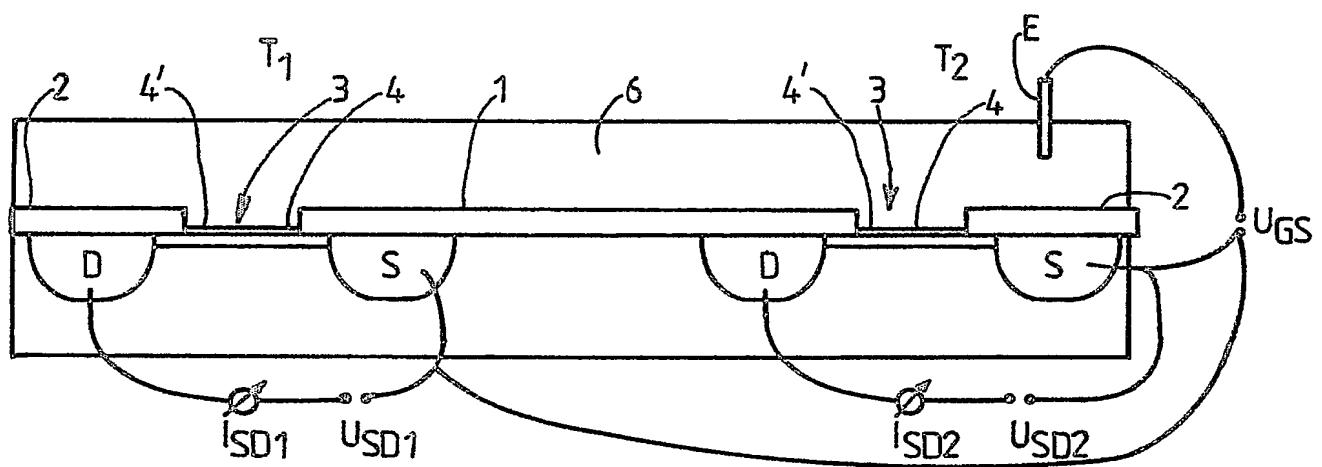
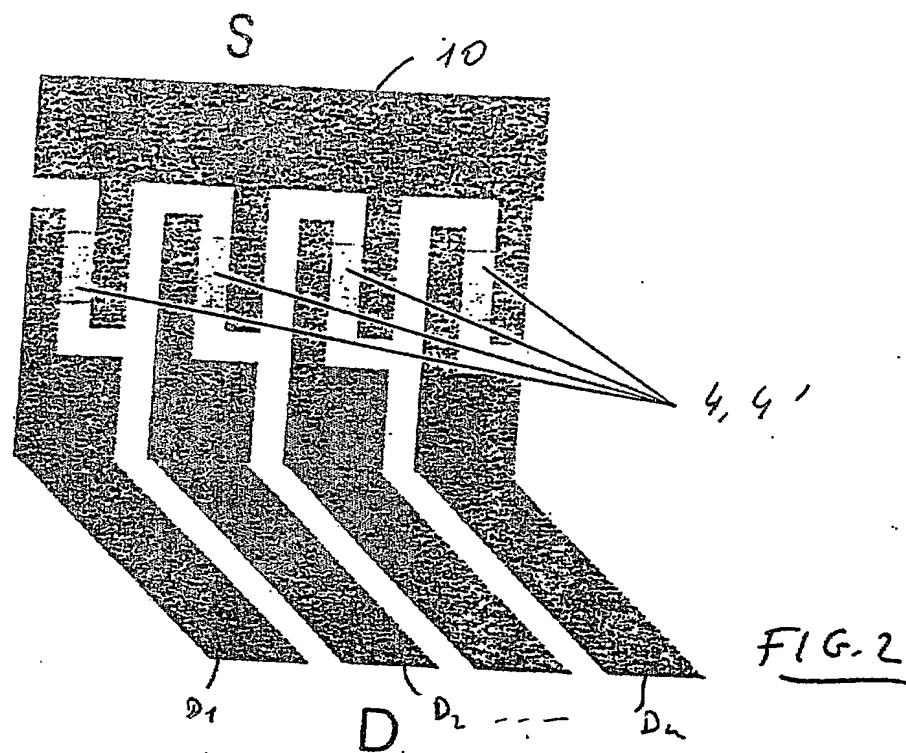


FIG. 1



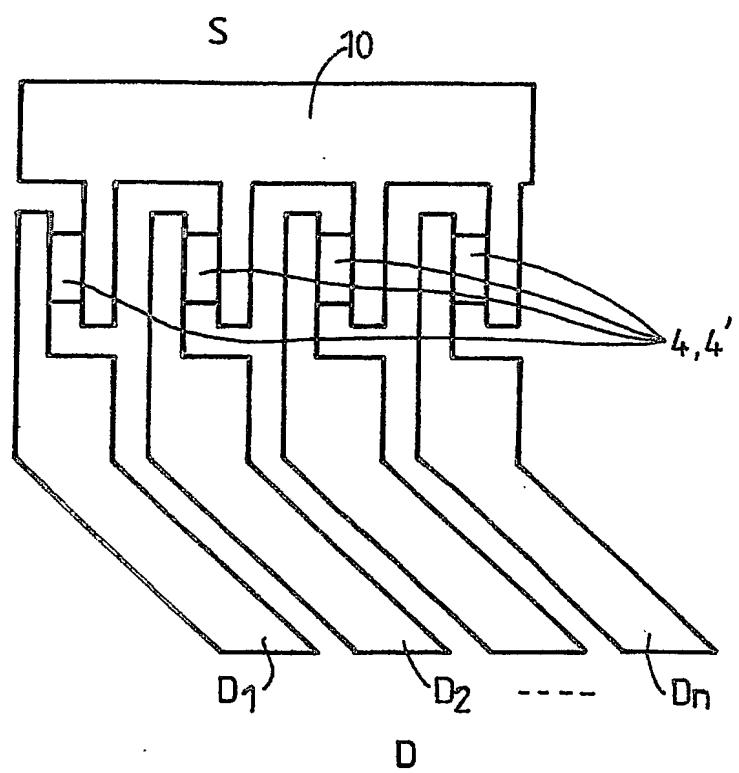
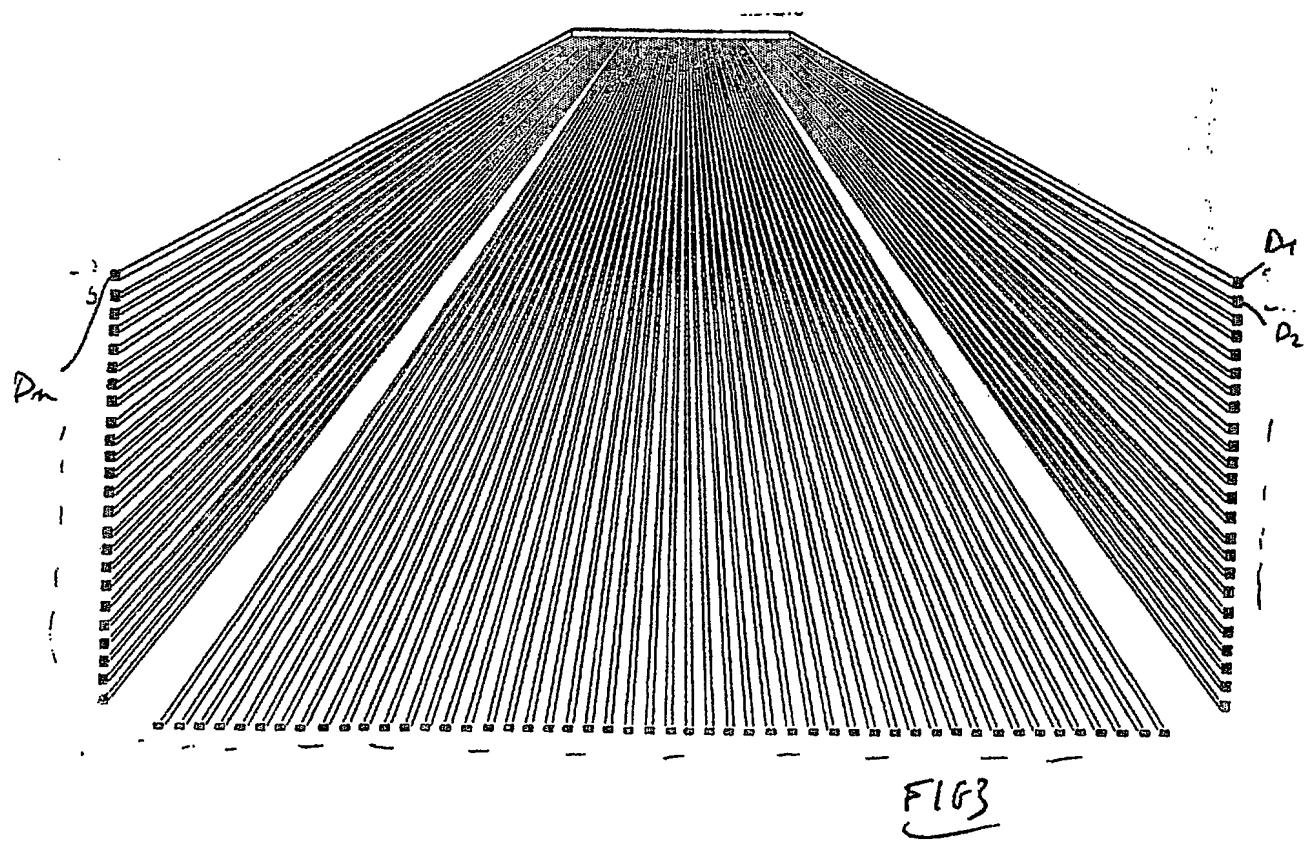


FIG. 2



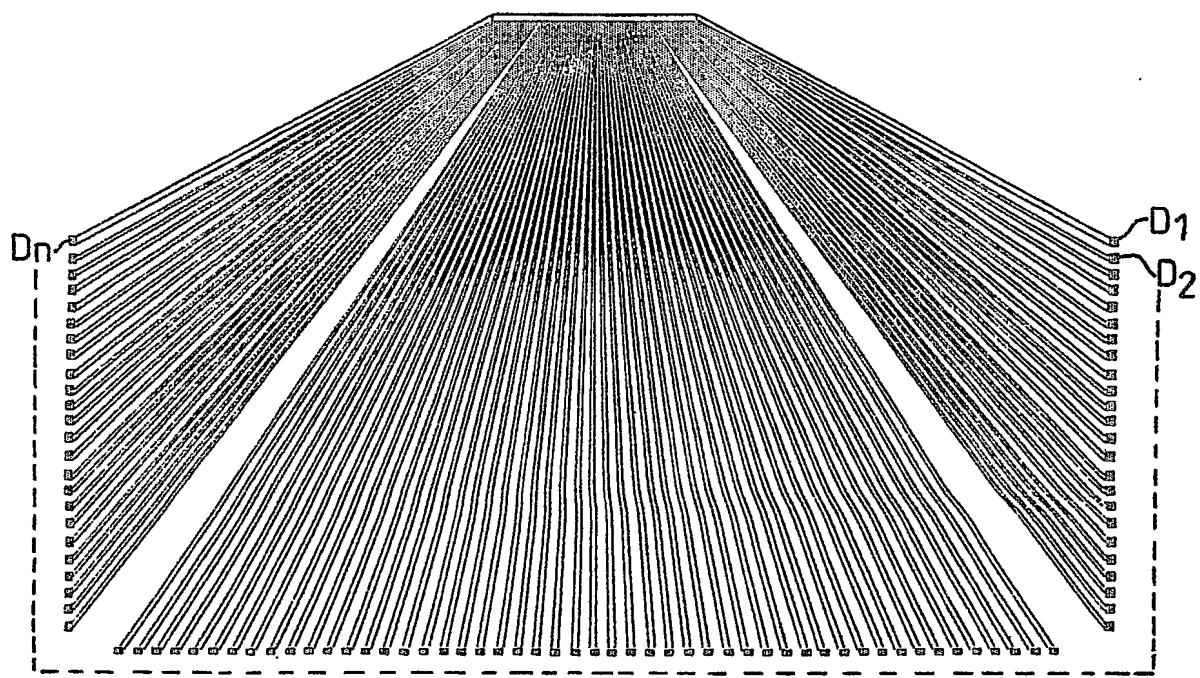


FIG. 3

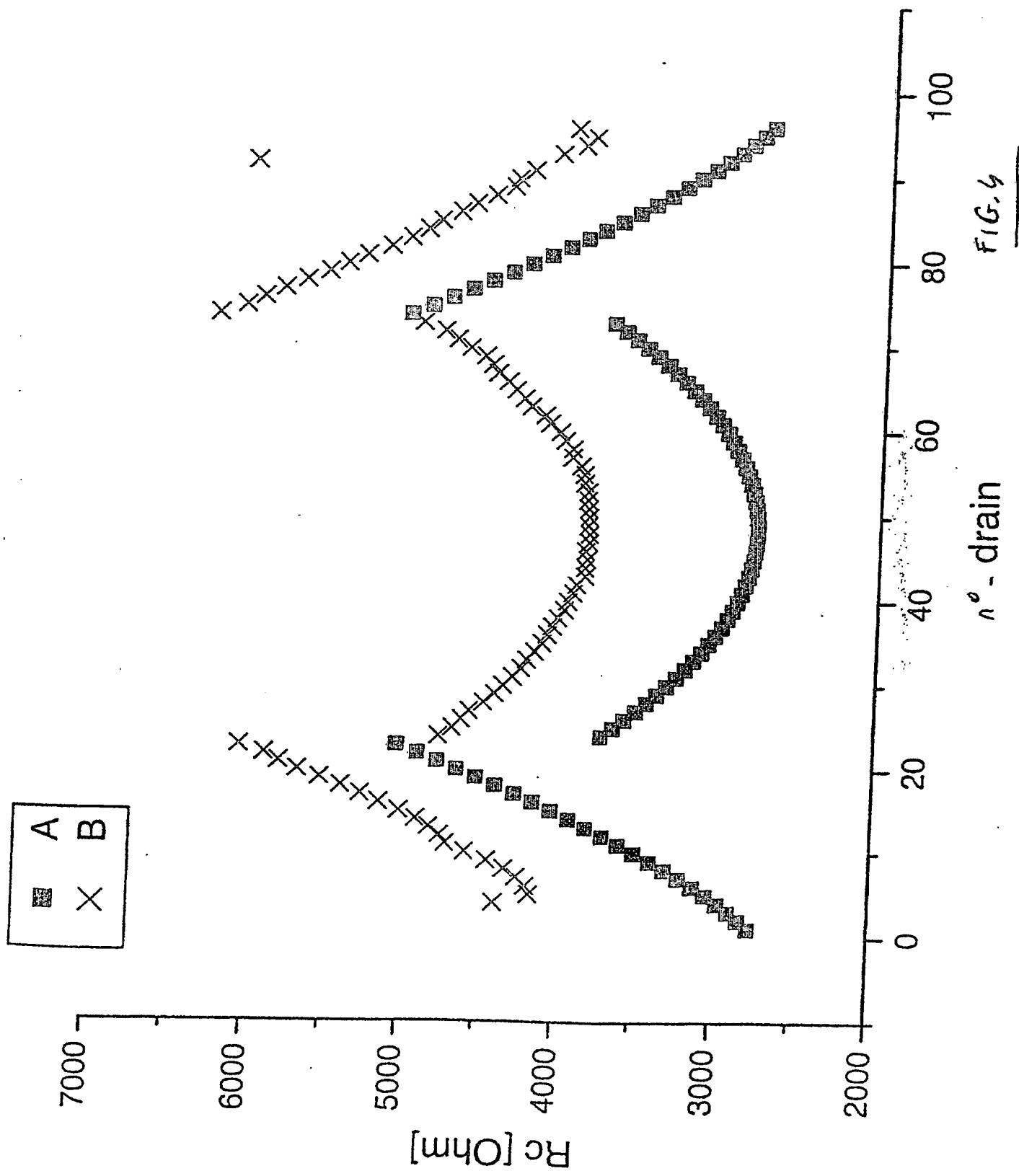


FIG. 4

 n^o - drain

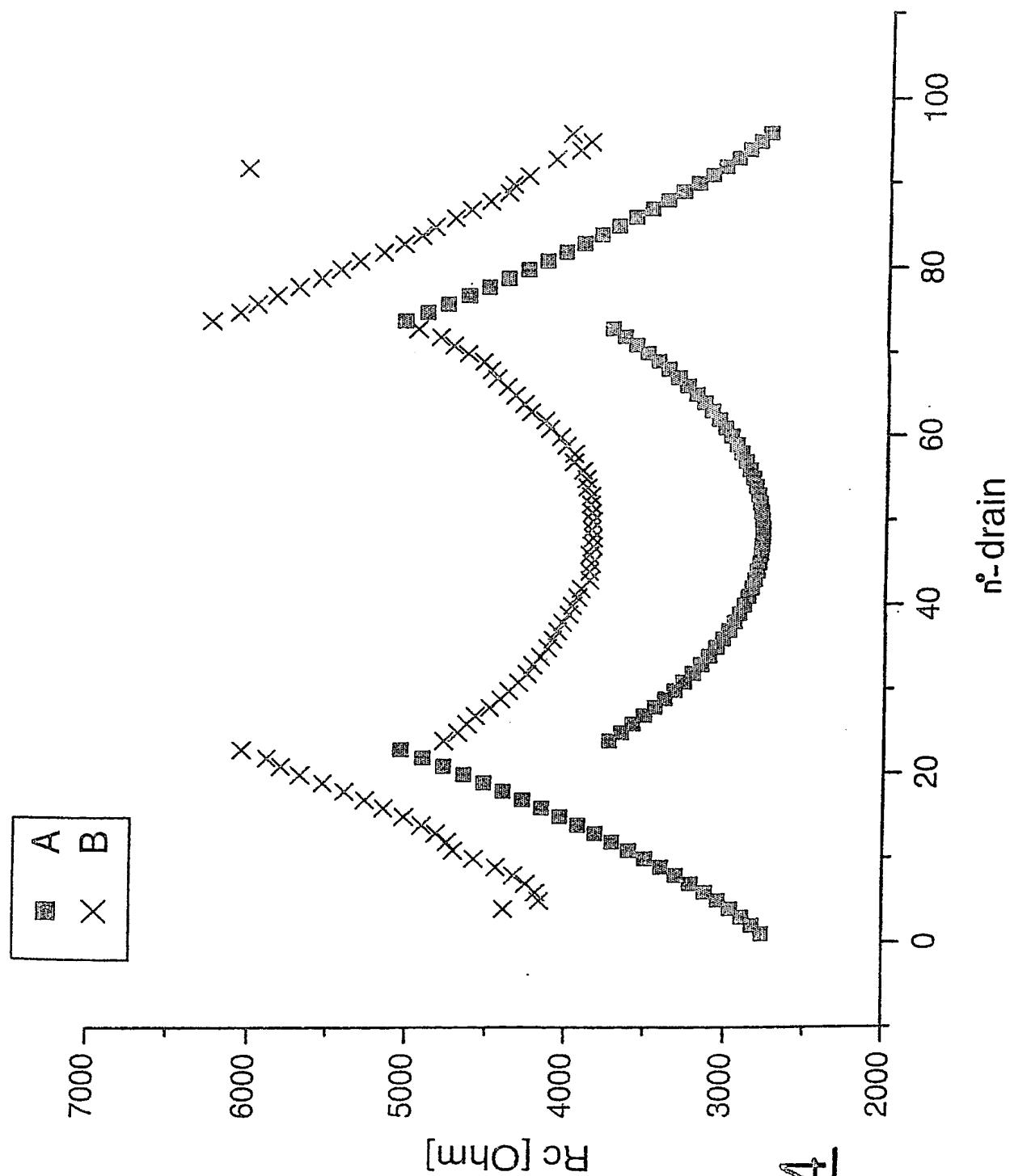
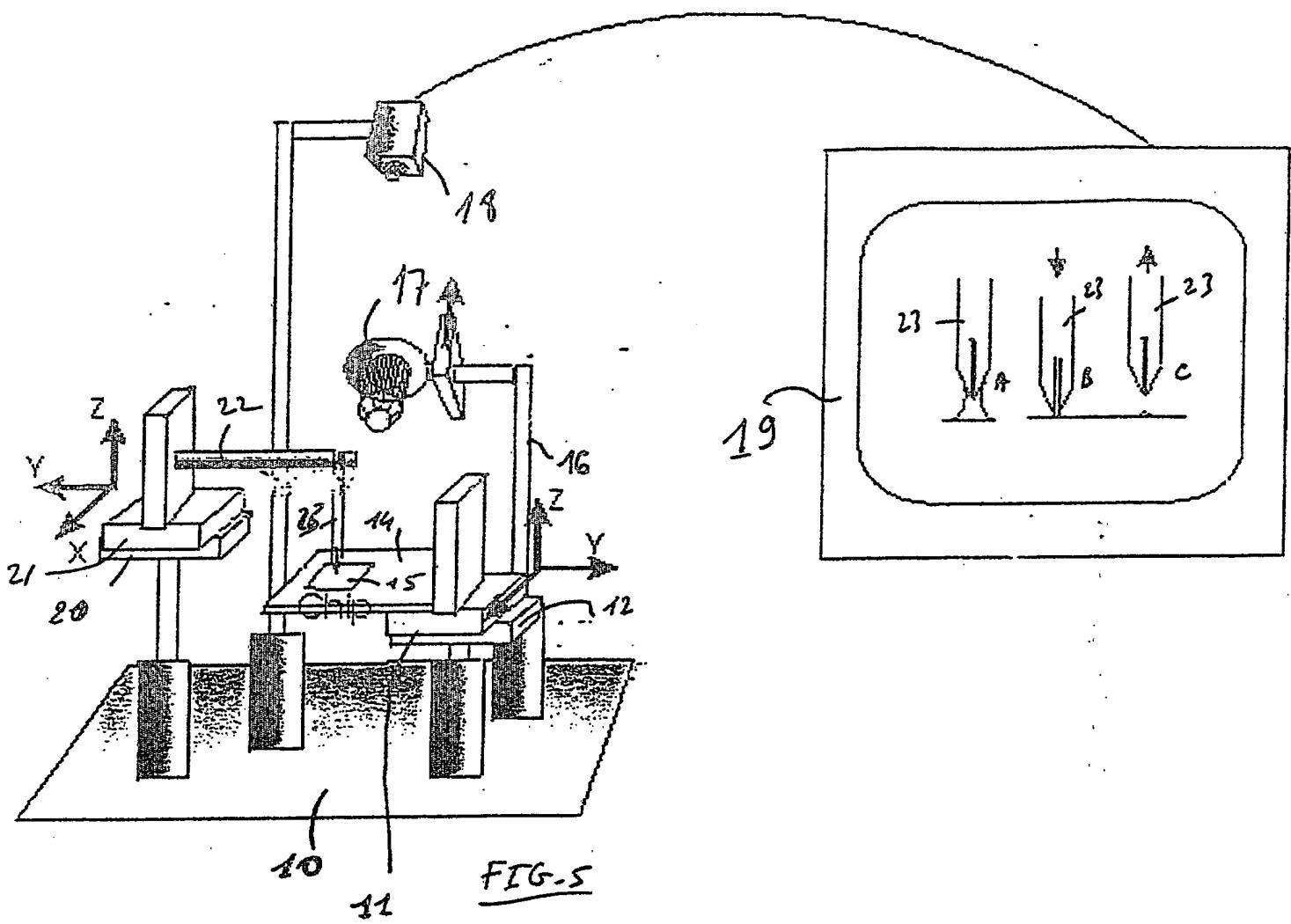
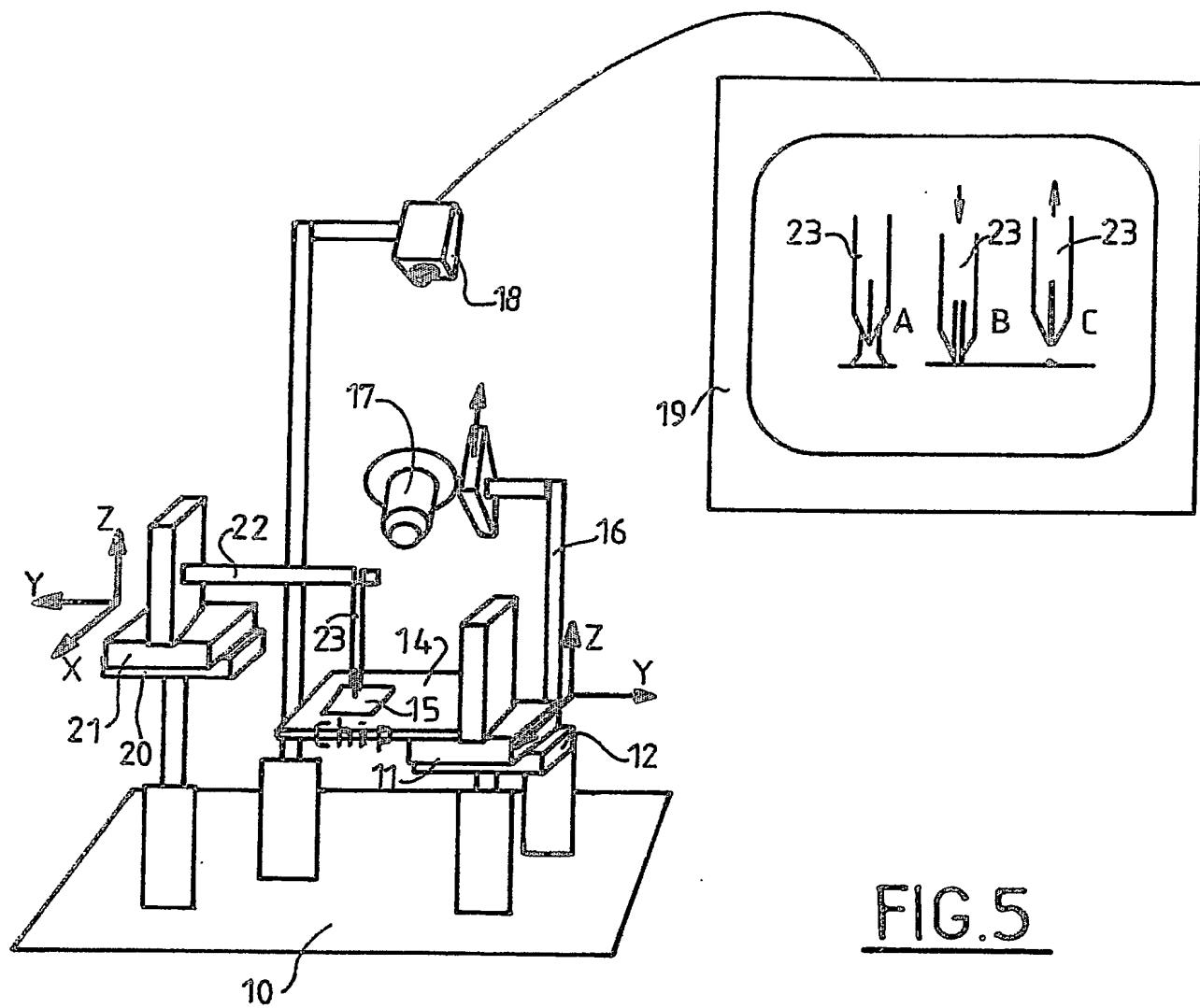
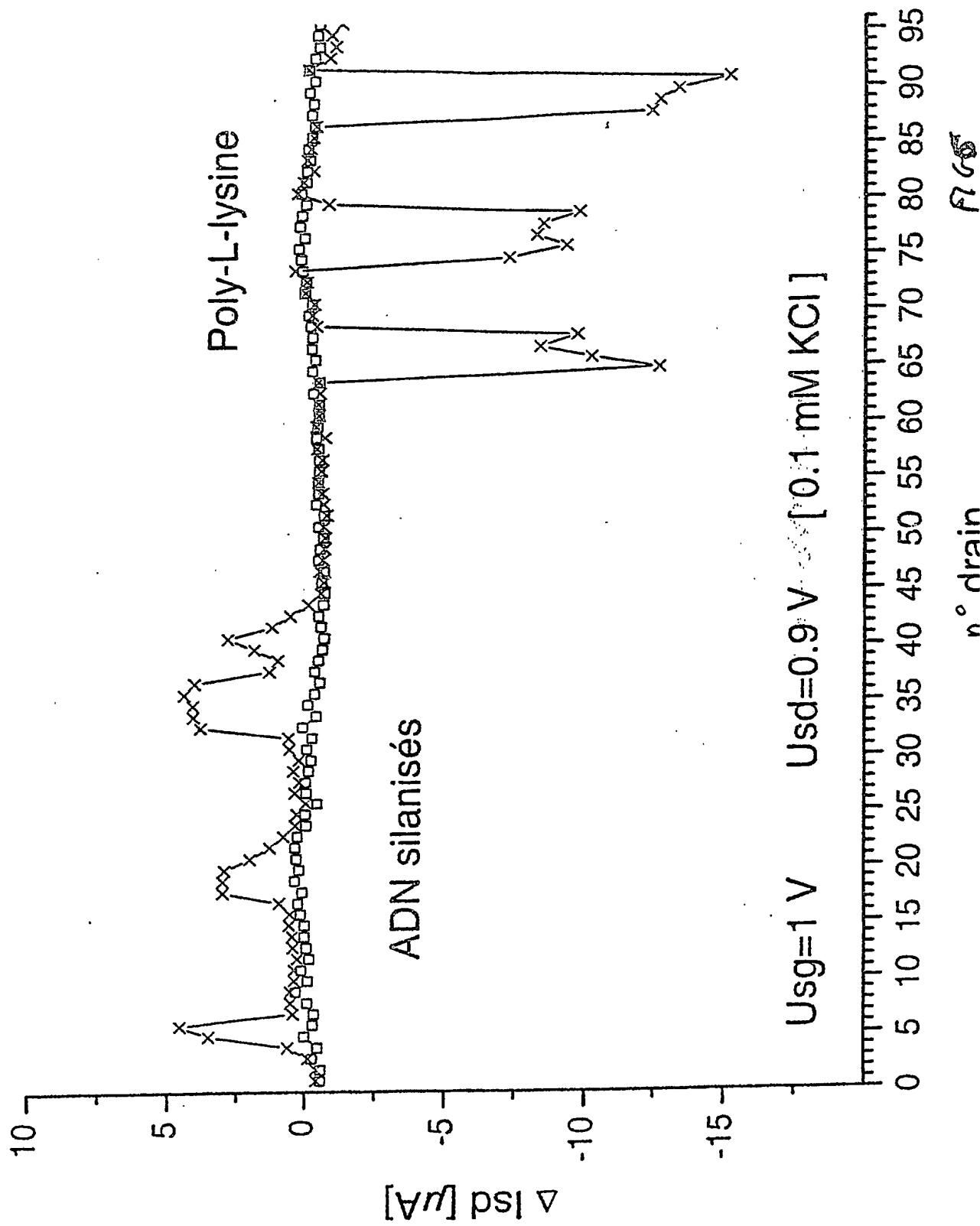
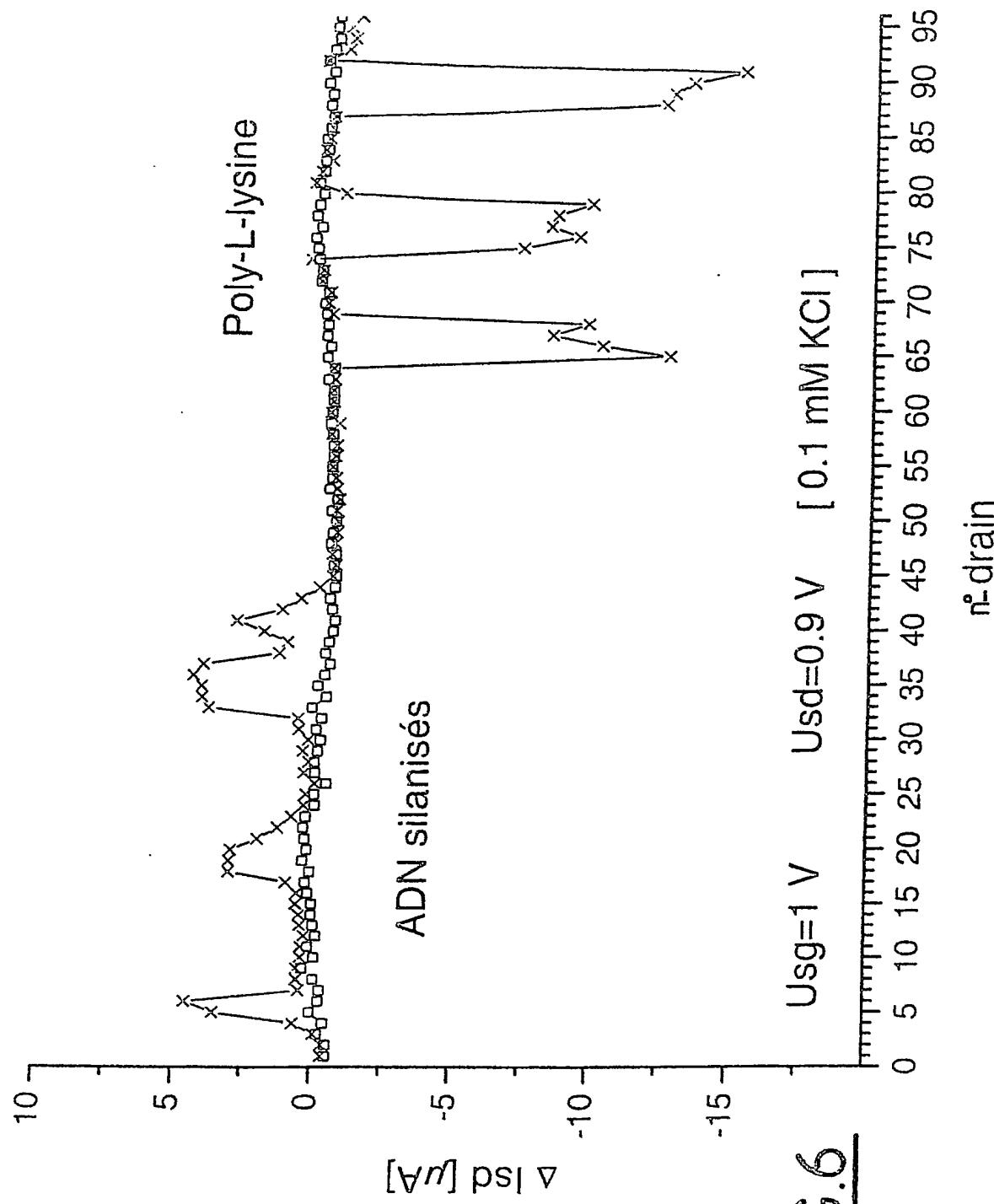


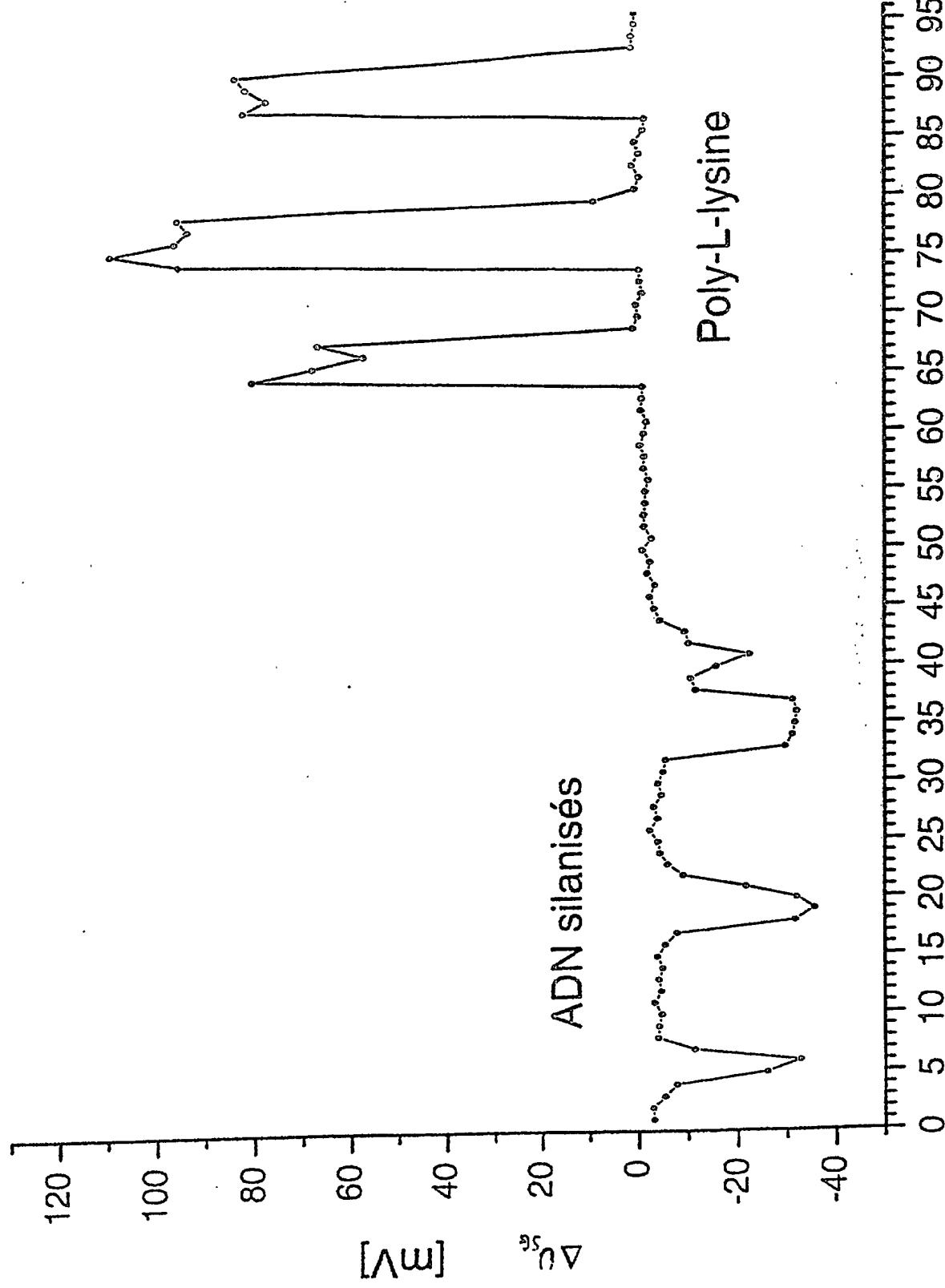
FIG. 4







FIG.6

Fig 7 n^o drain

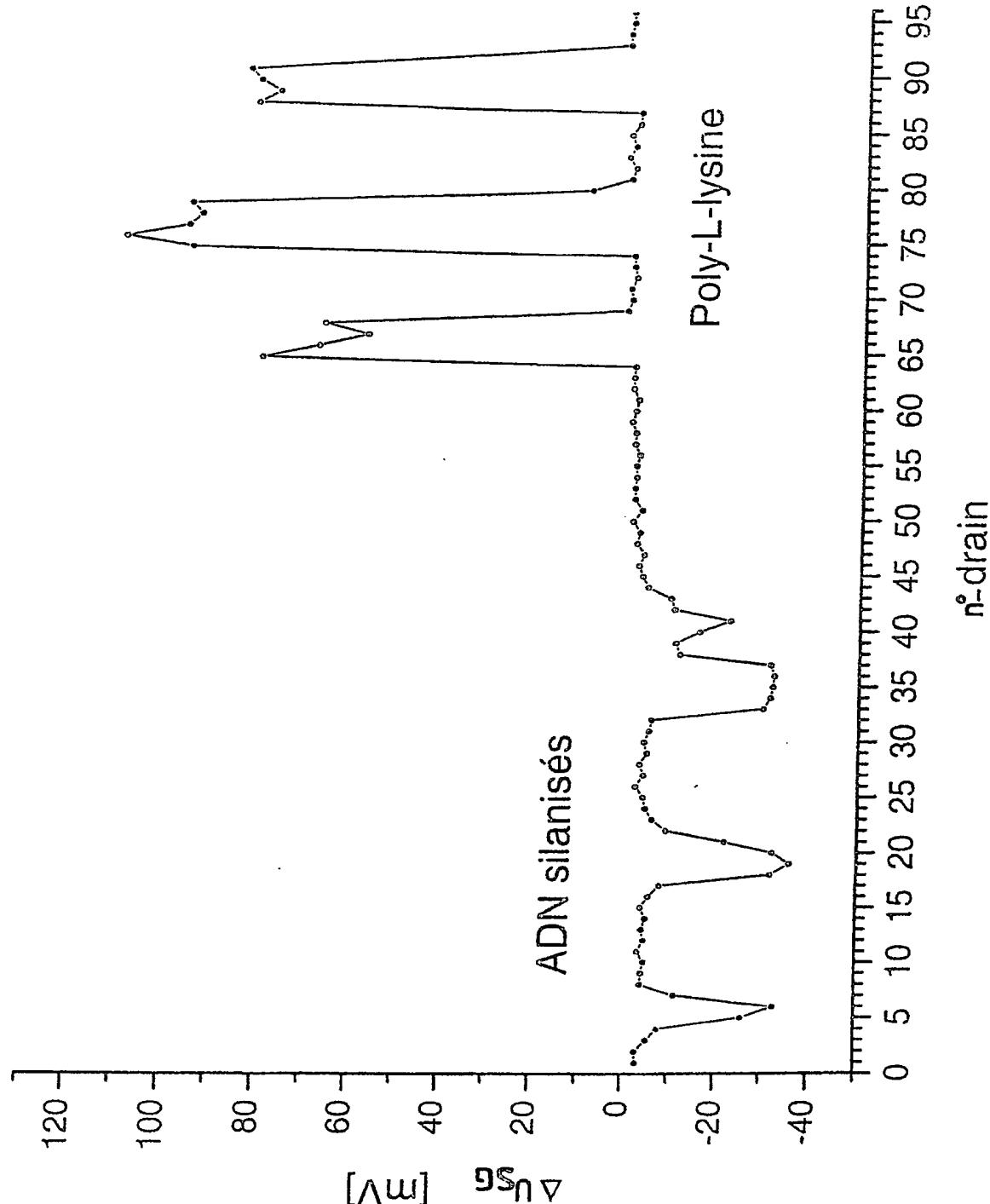


FIG. 7

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../1...

INV

(À fournir dans le cas où les demandeurs et
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		PJmnF644/71 FR
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0200676
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)		
PROCEDE DE DETECTION D'AU MOINS UN PARAMETRE CARACTERISTIQUE DE MOLECULES SONDES FIXEES SUR AU MOINS UNE ZONE ACTIVE D'UN CAPTEUR.		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE 3, rue Michel Ange 75974 PARIS CEDEX 16 FRANCE		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :		
1 Nom		BOCKELMANN
Prénoms		Ulrich
Adresse	Rue	33, rue des Cascades
	Code postal et ville	17 50 20 PARIS (FRANCE)
Société d'appartenance (facultatif)		
2 Nom		POUTHAS
Prénoms		François
Adresse	Rue	18, rue des Gobelins
	Code postal et ville	17 50 13 PARIS (FRANCE)
Société d'appartenance (facultatif)		
3 Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	11111
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivie du nombre de pages.		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Paris, le 5 Septembre 2002
		
JACQUARD Philippe - Mandataire n° 92-4024 CABINET ORES		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.